

## مقایسه اثر آنتی باکتریال دیکلوفناک سدیم، ترکیب دیکلوفناک و استرپتومایسین، تری آنتی بیوتیک و کلسیم هیدروکساید بر روی بیوفیلم انتروکوکوس فکاللیس در محیط آگار خونی

دکتر علی مرسلی اهری<sup>۱\*</sup> دکتر مسعود خبیری<sup>۲</sup> دکتر آرزو طهمورث پور<sup>۲</sup> دکتر مریم زارع جهرمی<sup>۲</sup>

۱- دستیار تخصصی گروه اندودانتیکس دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان، اصفهان

۲- استادیار گروه اندودانتیکس دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان، اصفهان

۳- استادیار میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان اصفهان، دانشکده پرستاری

### خلاصه:

**سابقه و هدف:** مطالعه با هدف تعیین اثرات آنتی باکتریال دیکلوفناک سدیم، ترکیب دیکلوفناک و استرپتومایسین، تری آنتی بیوتیک و کلسیم هیدروکساید بر روی بیوفیلم انتروکوکوس فکاللیس انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی- آزمایشگاهی، سوسپانسیون باکتریایی انتروکوک فکاللیس در محیط آگار خونی، روی ۵۶ دیسک استریل روی سطح آگار قرار گرفت. دیسک‌ها در ۷ گروه هشت تایی به مدت یک ساعت در برابر دیکلوفناک سدیم، استرپتومایسین، تری آنتی بیوتیک، دیکلوفناک سدیم- استرپتومایسین، تری آنتی بیوتیک تغییر یافته، کلسیم هیدروکساید و نرمال سالین در معرض قرار گرفتند. بعد از این مدت، فعالیت ضد میکروبی داروها از طریق شستشوی دیسک‌ها به تعداد پنج بار در سالین بافردار قطع شده و واحدهای تشکیل دهنده کلونی (CFU) باکتری‌های انتروکوک فکاللیس باقیمانده در دیسک‌ها شمارش گردید و در گروه‌های مختلف با آزمون‌های Mann-U-Whitney و kruskal wallis تجزیه و تحلیل شد.

**یافته‌ها:** تری آنتی بیوتیک و استرپتومایسین، کلیه گونه‌های انتروکوک فکاللیس را از بین برده و بعد از آنها؛ تری آنتی بیوتیک تغییر یافته؛ دیکلوفناک سدیم استرپتومایسین؛ دیکلوفناک سدیم و کلسیم هیدروکساید بیشترین توانایی باکتری کشی را نشان دادند و بین آنها تفاوت معنی‌داری دیده شد. ( $p < 0/004$ ) جایگزینی دیکلوفناک سدیم با ماینوسایکلین در ترکیب تری آنتی بیوتیک موجب کاهش معنی‌داری خصوصیات ضد باکتری دارو گردید. ( $P < 0/002$ )

**نتیجه گیری:** خصوصیات آنتی باکتریال داروی ضد التهابی دیکلوفناک سدیم در مقایسه با کلسیم هیدروکساید بر علیه بیوفیلم انتروکوک فکاللیس به صورت آشکاری بیشتر بوده و می‌توان در شرایط کلینیکی آن را جایگزین کلسیم هیدروکساید نمود.

**کلید واژه‌ها:** عامل آنتی باکتریال، کلسیم هیدروکساید، انتروکوک فکاللیس، درمان کانال ریشه، دیکلوفناک

وصول مقاله: ۹۲/۲/۲۱ اصلاح نهایی: ۹۲/۶/۸ پذیرش مقاله: ۹۲/۹/۱۲

### مقدمه:

در کانال می‌تواند منجر به ایجاد مشکلاتی مانند بیماری

پری اپیکال گردد.<sup>(۱،۲)</sup>

کلسیم هیدروکساید به عنوان داروی داخل کانال ریشه در بین جلسات درمانی؛ خواص مطلوبی مانند حلالیت بافت نکروزه،

pH بالا (در جلوگیری از پیشرفت تحلیل) و خواص ضد

میکروارگانیسم دارد.<sup>(۳)</sup> با این حال؛ دو گونه انتروکوک فکاللیس

و کاندیدا آلبیکانس در موارد شکست درمان ریشه مشاهده شده

ولی هیدروکسید کلسیم روی این دو گونه اثرات مطلوبی

ندارد.<sup>(۴)</sup> این دارو، همچنین؛ تمامی میکروارگانیسم‌ها را از

حذف میکروارگانیسم‌های داخل کانال ریشه با استفاده از

روش‌های مکانیکی و شیمیایی از مهم‌ترین اهداف درمان کانال

ریشه می‌باشد.<sup>(۱)</sup> براساس نتایج تحقیقات مختلف، اکثر

تکنیک‌های آماده‌سازی و پاکسازی کانال باعث حذف کامل

بافت‌ها و میکروارگانیسم‌ها نشده و همواره مناطق دست

نخورده‌ای در کانال ریشه باقی می‌ماند.<sup>(۲)</sup> از طرف دیگر، اکثر

روش‌های شستشوی کانال باعث حذف صد در صد

میکروارگانیسم‌ها از کانال نشده و باقی ماندن میکروارگانیسم‌ها

# نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر علی مرسلی اهری، اصفهان- ارغوانیه- دانشگاه آزاد اسلامی - دانشکده دندانپزشکی بخش تخصصی اندودانتیکس تلفن: ۰۹۱۴۳۱۳۹۱۹۸

پست الکترونیک: Ali.morsali@gmail.com

سیستم کانال ریشه حذف نکرده و نیاز به مدت زیادی برای اعمال اثرات ضدمیکروبی دارد.<sup>(۵)</sup>

همزمان، میزان توانایی آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نظیر آموکسی‌سیلین، وانکومایسین، اریترومایسین، بنزیل‌پنی‌سیلین و داکسی‌سایکلین برعلیه گونه‌های انتروکوک فکالیز در برخی تحقیقات ارزیابی شده است.<sup>(۵،۶)</sup> در طول سالین متمادی، استفاده سیستماتیک و موضعی از آنتی‌بیوتیک‌ها در دندانپزشکی و پزشکی به عنوان یک روش معمول پذیرفته شده است.<sup>(۱)</sup> به منظور افزایش میزان استریل بودن کانال‌ها؛ خمیر آنتی‌بیوتیک سه‌تایی محتوی مخلوط پودر سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، سیپروفلوکساسین و ماینوسایکلین به نسبت مساوی و سپس، ترکیب این پودر با نرمال سالین هم در مواردی استفاده شده است. به نظر می‌رسد استفاده از آنتی‌بیوتیک به عنوان داروی داخل کانال ریشه بتواند در افزایش میزان استریل بودن سیستم کانال مؤثر باشد.<sup>(۴)</sup>

دیکلوفناک سدیم یک داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی است که در درمان انواع دردها، اختلالات التهابی و دیس‌منوره اندیکاسیون داشته و اثرات سیستمیک دیکلوفناک در کاهش دردهای دندانی به تأیید رسیده است.<sup>(۶)</sup>

در برخی مطالعات؛ اثرات آنتی‌باکتریال دیکلوفناک روی تمام گونه‌های مقاوم E.coli گزارش شده است.<sup>(۷)</sup> همچنین، در عفونت سالمونلای موش‌ها؛ این دارو اثرات آنتی‌باکتریال دارد.<sup>(۸)</sup> اثر آنتی‌باکتریال دیکلوفناک بر روی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس نیز به تأیید رسیده است.<sup>(۹)</sup> حدود ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر دیکلوفناک روی اکثر گونه‌های گرم مثبت و منفی مؤثر نشان داده شده و مکانیسم این اثرات هم توسط DNA synthesis inhibition توضیح داده شده است.<sup>(۸، ۹)</sup> علاوه بر این؛ به نظر می‌رسد این دارو در ترکیب با استرپتومایسین بتواند اثرات ضدمیکروبی بیشتری از خود نشان دهد.<sup>(۹)</sup> اخیراً گزارش شده دیکلوفناک فعالیت ضدباکتری بیشتری در مقایسه با کلسیم هیدروکساید در درمان‌های کانال ریشه داشته ولی اثرات آن برعلیه گونه‌های انتروکوک فکالیز کمتر از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها بوده است.<sup>(۱۰)</sup>

تحقیق حاضر با هدف تعیین اثرات آنتی‌باکتریال دیکلوفناک سدیم، ترکیب دیکلوفناک و استرپتومایسین، تری‌آنتی‌بیوتیک و کلسیم هیدروکساید بر روی بیوفیلم انتروکوکوس فکالیز در سال ۱۳۹۱ در بخش اندودونتیکس دانشکده دندانپزشکی و بخش میکروبیولوژی دانشکده پرستاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان انجام شد.

### مواد و روش‌ها:

تحقیق به صورت تجربی- آزمایشگاهی انجام شد. برای این منظور؛ بیوفیلم انتروکوکوس فکالیز (استرین امریکایی ATCC 11700) روی ۵۶ دیسک نیتراک سلولزی در هفت گروه هشت تایی استریل با پوشش فیلتر تهیه شد. ضخامت این لایه‌ها معادل ۰/۲ میکرومتر بوده و به صورت دیسک‌هایی به قطر ۱۳ میلی‌متر تهیه شدند. سوسپانسیون باکتریایی از ده میلی‌لیتر نرمال سالین استریل و از طریق انتشار کلنی‌های باکتری انتروکوکوس فکالیز به دست آمده از کشت شبانه در محیط Blood Agar تهیه شد. دانسیته سوسپانسیون از استاندارد مک فارلند تبعیت می‌کرد که به تعداد حدودی  $10^8$  CFU/ml<sup>(۴)</sup> بوده است.

رقت‌های پنجاه میکرولیتری از سوسپانسیون باکتری در دیسک‌های استریل تلقیح شده و روی سطح آگار خونی قرار گرفتند. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت روی آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در محیط بی‌هوازی انکوبه شدند. بعد از ۴۸ ساعت؛ دیسک‌ها در شرایط استریل از پلیت آگار برداشته شده و به دقت به محیط حاوی بافر فسفات منتقل شدند تا باکتری‌هایی که به صورت شل اتصال یافته بودند، جدا شوند. در ادامه؛ دیسک‌ها به مدت یک ساعت در محیط ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به صورت بی‌هوازی تحت تأثیر گروه‌های مختلف دارویی به شرح زیر قرار گرفتند.<sup>(۴، ۱۰)</sup>

-کلسیم هیدروکساید (آریادنت، تهران، ایران)

-دیکلوفناک سدیم ۱۰۰ میلی گرم (Shasun Ltd, India)

-ترکیب استرپتومایسین و دیکلوفناک سدیم

میانگین) کلونی‌های تشکیل دهنده باکتری انتروکوک فکالایس در دیسک‌ها و به دنبال اکسپوز شدن در برابر داروهای مختلف محاسبه و گزارش گردید. به دلیل همگن نبودن گروه‌ها از نظر مقادیر واریانس؛ عدم تبعیت از توزیع نرمال در برخی گروه‌ها و نیز اندک بودن تعداد نمونه‌ها در گروه‌های مختلف؛ از آزمون Kruskal-wallis برای مقایسه مقادیر CFU در رژیم‌های درمانی مختلف استفاده شد. در نهایت، به دلیل معنی‌دار بودن نتایج آزمون کروسکال والیس در حالت کلی؛ مقایسه‌های دو به دو گروه‌ها هم با استفاده از آزمون Mann-U- whitney انجام شد.

#### یافته‌ها:

میزان کلنی‌های باکتری انتروکوک فکالایس در ۵۶ دیسک (هفت گره هشت تایی) به دنبال مواجهه با داروهای مختلف در جدول زیر خلاصه گردید. (جدول ۱)

جدول ۱- تعداد کلونی‌های انتروکوکوس فکالایس در واحد (CFU) به تفکیک ۷۹۴/۵±۵۲/۸ گروه‌های مختلف دارویی

گروه‌ها	± میانگین انحراف معیار	بازه پائین	بازه بالا
کلسیم هیدروکساید	۷۹۴/۵±۵۲/۸	۷۳۸/۹۹	۸۵۰/۰
دیکلوفناک سدیم	۲۰۷±۲۳/۷	۱۸۲/۱۲	۲۳۱/۸۸
تری آنتی‌بیوتیک	.	.	.
دیکلوفناک سدیم + استرپتومایسین	۱۶۰/۶۷±۲۱/۳	۱۳۸/۲۱	۱۸۳/۱۲
کنترل (نرمال سالین)	۱۵۵۶/۷±۱۲۴/۳	۱۴۲۶/۲	۱۶۸۷/۱۸
استرپتومایسین	.	.	.
تری آنتی‌بیوتیک تغییر یافته	۱۳۵/۸±۱۲/۳	۱۲۲/۹۱	۱۴۸/۷۶

آزمون Kruskal-wallis نشان داد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف از نظر مقادیر میانگین کلنی‌های باکتری انتروکوک فکالایس وجود داشته است ( $p < ۰/۰۰۴$ ). با توجه به معنی‌دار بودن نتایج آزمون کلی Kruskal-wallis؛ از آزمون Mann-U-whitney برای مقایسه دو به دو

-ترکیب تری آنتی‌بیوتیک، سیپروفلوکساسین ۲۵۰ میلی گرم (Bayer plc, UK)، مترونیدازول ۲۵۰ میلی گرم (Flagyl, Winthrop Pharmaceuticals, UK) و ماینوسیکلین ۱۰۰ میلی گرم (Expanscience Laboratories, Paris, France) به نسبت حجمی برابر

-استرپتومایسین ۱ گرم (X-GEN Pharmaceuticals, Inc, Horseheads, US)  
-ترکیب تری آنتی‌بیوتیک تغییر یافته (استفاده از دیکلوفناک سدیم به جای ماینوسیکلین)  
-گروه کنترل نرمال سالین (رازی، کرج، ایران)

آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در تحقیق به صورت تجاری و تزریقی در بازار موجود بوده و طبق دستورالعمل شرکت سازنده به کار گرفته شدند. اسیدپته نمونه‌ها هم توسط pH متر اندازه‌گیری شد. شش دیسک تحت تأثیر هر یک از گروه‌ها قرار داده شدند (در مجموع؛ ۳۶ نمونه). یک دیسک هم برای اطمینان از وجود باکتری قبل از تأثیر آنتی‌بیوتیک در محلول فسفات بافر قرار داده شد. این یک نمونه غیر از پنج نمونه‌ای بود که در گروه بافر فسفات قرار گرفته و همانند سایر گروه‌ها در انکوباتور نگهداری شد. بعد از یک ساعت تماس ماده فعال روی دیسک‌ها، نمونه‌ها پنج بار با ده میلی‌لیتر محلول سالین فسفات بافر شستشو داده شد. سپس؛ باقی‌مانده باکتریایی روی دیسک در دستگاه اولتراسونیک و به مدت ۱۰ دقیقه جدا شده و سوسپانسیون باکتری مناسبی به دست آید. سوسپانسیون حاصل ده برابر رقیق شده و در پلیت‌های آگار خونی Columbia horse ساخت شرکت Thermo Scientific کشور آمریکا قرار داده شدند. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در محیط کشت بی‌هوازی با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.<sup>(۱۱)</sup> شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلونی (CFU) برای هر دیسک با استفاده از میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی ۴۰× انجام شد.

شاخص‌های پراکندگی مرکزی (میانگین، انحراف معیار، خطای معیار، ماگزیمم، می‌نیمم و ۹۵ درصد فاصله اطمینان

گروه‌ها استفاده شد. نتایج آزمون Mann-U-whitney هم نشان داد، تفاوت بین گروه‌های تری آنتی‌بیوتیک و استرپتومایسین ( $p=0/1$ ) و ترکیب دیکلوفناک سدیم و استرپتومایسین با تری آنتی‌بیوتیک تغییر یافته ( $p=0/07$ ) از نظر آماری معنی‌دار نبوده است. در عین حال، تفاوت‌های معنی‌داری از نظر مقادیر میانگین کلنی‌های باکتری انتروکوک فکالایس بین سایر گروه‌ها وجود داشت.

#### بحث:

براساس نتایج تحقیق حاضر؛ عوامل دارویی تری آنتی‌بیوتیک و استرپتومایسین، بیشترین اثرات باکتری‌کشی برعلیه گونه‌های انتروکوک فکالایس را داشته و بعد از آنها؛ تری آنتی‌بیوتیک تغییر یافته (جایگزینی ماینوسایکلین با دیکلوفناک سدیم)؛ دیکلوفناک سدیم استرپتومایسین؛ دیکلوفناک سدیم به تنهایی و کلسیم هیدروکساید قرار داشتند. بیشترین مقادیر کلنی‌های باکتری هم در گروه کنترل به ثبت رسید.

براین اساس؛ میزان کلنی‌های باکتری انتروکوک فکالایس به دنبال مواجهه با تری آنتی‌بیوتیک (حاوی سیپروفلوکساسین، مترونیدازول، ماینوسایکلین) برابر صفر بوده و این دارو توانسته بود همانند استرپتومایسین تمامی میکروارگانیسم‌ها را از بین ببرد. البته استفاده از دیکلوفناک سدیم به جای ماینوسایکلین در ترکیب تری آنتی‌بیوتیک موجب کاهش خصوصیات آنتی‌باکتری ترکیب گردیده بود، لذا فرضیه تقویت خصوصیات تری آنتی‌بیوتیک از طریق جایگزینی دیکلوفناک سدیم با ماینوسایکلین در این تحقیق رد شد.

آنتی‌بیوتیک ترکیبی که شامل نسبت‌های مساوی از سه آنتی‌بیوتیک مترونیدازول، ماینوسایکلین و سیپروفلوکساسین به همراه نرمال سالین می‌باشد، کاربردهای فراوانی در ضد عفونی کردن کانال، بخصوص در درمان‌های regeneration داشته و برخی تحقیقات هم بیانگر اثرات ضد میکروبی قوی آن برعلیه میکروارگانیسم‌های موجود در کانال‌های عفونی می‌باشد.<sup>(۱۲،۱۳)</sup> علت انتخاب این

آنتی‌بیوتیک برای تحقیق نیز؛ استفاده مکرر از آن به دلیل خاصیت revascularization آن بوده است. از طرف دیگر، به نظر می‌رسد به دلیل استفاده از عوامل آنتی‌بیوتیک سه‌گانه در آن، کارایی ضدباکتری بیشتری در موارد استعمال آن به دست آید.

Sato و همکاران، نشان دادند تنها مقادیر اندکی از این مخلوط جهت استریلیزه کردن عاج عفونی مورد نیاز بوده و این مقدار هیچ تغییرات پاتولوژیکی خاصی روی بافت پالپ انسان ایجاد نمی‌کند.<sup>(۱۴)</sup>

Hoshino و همکاران، اثرات ضد میکروبی مخلوط سیپروفلوکساسین، مترونیدازول و ماینوسایکلین با و بدون افزودن Rifampicin را روی باکتری‌های تهیه شده از دیواره‌های کانال‌های ریشه عفونی ارزیابی و گزارش کردند، نتایج این تحقیق نشان داد کارایی باکتری‌کشی تمامی ترکیبات دارویی به حدی بوده است که بتوانند باکتری‌ها را در کانال‌های ریشه عفونی از بین ببرد.<sup>(۱۳)</sup>

Kritbikadatta و همکاران نیز اثرات آنتی‌باکتریال چهار ماده مختلف (کلسیم هیدروکساید، ژل کلرهگزیدین ۲ درصد، مترونیدازول ۲ درصد و بیواکتیوگلاس) را در سه بازه زمانی ۱، ۳ و ۵ روز برعلیه انتروکوک فکالایس کشت یافته در کانال ریشه و توبول‌های عاجی بررسی و اثربخشی ژل مترونیدازول ۲ درصد (به عنوان یکی از ترکیبات تری آنتی‌بیوتیک) را قوی‌تر از کلسیم هیدروکساید و ضعیف‌تر از کلرهگزیدین ۲ درصد برآورد کردند.<sup>(۱۴)</sup>

Adl و همکاران، فعالیت ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم و خمیر آنتی‌بیوتیکی سه‌گانه را برعلیه گونه‌های انتروکوک فکالایس ارزیابی و بیشترین مقادیر نواحی پیشگیری از رشد را در مخلوط آنتی‌بیوتیک سه‌گانه و سالین، مخلوط آنتی‌بیوتیک سه‌گانه و کلرهگزیدین ۲ درصد و بعد از آن در مخلوط ماینوسایکلین/سالین مشاهده کردند.<sup>(۱۵)</sup>

بیوفیلم باکتری انتروکوک فکالایس ممکن است دلیل اصلی مقاومت آن در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها باشد و ماتریکس موجود در بیوفیلم نیز به عنوان عاملی که از انتشار آنتی‌بیوتیک‌ها

۲ درصد و بیواکتیو گلاس بر علیه انتروکوک فکالایس کشت یافته در کانال ریشه و توبول‌های عاجی، کلسیم هیدروکساید را ضعیف‌ترین عامل باکتری‌کشی معرفی کردند. <sup>(۱۴)</sup> Adl و همکاران؛ فعالیت ضد میکروبی هیدروکسید کلسیم و خمیر آنتی‌بیوتیکی سه‌گانه را بر علیه گونه‌های انتروکوک فکالایس ارزیابی و کمترین ناحیه پیشگیری از رشد را در مخلوط هیدروکسید کلسیم-سالیین و هیدروکسید کلسیم+کلرگزیدین ۲ درصد گزارش کردند. <sup>(۱۵)</sup>

خصوصیات ضد باکتری کلسیم هیدروکساید به خصوصیات قلیایی و توانایی آن برای از بین بردن غشاء سیتوپلاسمی، دناتوره کردن پروتئین‌های باکتری و نیز آسیب به DNA باکتری بستگی دارد. <sup>(۱۷)</sup> علیرغم برخی معایب کلسیم هیدروکساید؛ این عامل ضد میکروبی اثرات بیولوژیک مطلوبی هم دارد، از جمله اینکه در خنثی‌سازی لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتریال و فعالیت ضد تحلیل نقش داشته و به تشکیل بافت سخت نیز کمک می‌نماید. <sup>(۱۸)</sup> علاوه بر مقاومت برخی زیر گونه های انتروکوکوس فکالایس در مقابل کلسیم هیدروکساید، حلالیت و قابلیت انتشار محدود هیدروکسید کلسیم و نیز توانایی بافری عاجی آن ممکن است شرایط ماده برای رسیدن به pH مورد نیاز برای نابودسازی میکروارگانیسم‌ها را در توبول‌های عاجی یا نواحی آناتومیکی پیچیده سخت‌تر نماید. <sup>(۱۹)</sup> هنگامی که هیدروکسید کلسیم به نواحی عاج محیطی می‌رسد، pH آن به محدوده ۷/۴ تا ۶/۷ رسیده و ممکن است برای سلول‌های رجراتیو پرودنتال آسیب‌زا باشد. <sup>(۳)</sup>

تحقیقاتی که از مدل دندان‌های آلوده شده برای ارزیابی کارایی کلسیم هیدروکساید بر علیه گونه‌های انتروکوک فکالایس استفاده کرده‌اند؛ همگی نشان داده‌اند این ماده مخصوصاً هنگامی که به تنهایی علیه این گونه‌ها به کار می‌رود؛ کارایی خاصی علیه این باکتری ندارد. <sup>(۱۹،۲۰)</sup> برعکس؛ Chai و همکاران گزارش کردند اریترومایسین، اکسی‌تتراسایکلین و کلسیم هیدروکساید به صورت کامل در برداشت بیوفیلم باکتری انتروکوک فکالایس مؤثر بوده‌اند. <sup>(۱۱)</sup>

پیشگیری می‌نماید؛ عمل کرده و در نتیجه، انتقال مولکول‌های آنتی‌بیوتیک به درون بیوفیلم یا واکنش مواد آنتی‌بیوتیک در درون ماتریکس به تعویق افتد. <sup>(۱۶)</sup> مکانیسم احتمالی دیگر در این زمینه؛ تغییر سرعت رشد میکروارگانیسم در درون بیوفیلم می‌باشد، به طوری که محیط مغذی تغییر یافته در درون بیوفیلم، میزان سرعت رشد میکروارگانیسم‌های موجود را نیز تغییر می‌دهد. <sup>(۱۵،۱۶)</sup> حساسیت انتروکوکوس فکالایس به آنتی‌بیوتیک‌ها در برخی موارد ارزیابی شده و نتایج متفاوتی نیز از نظر حداقل غلظت مهار کننده گزارش شده است. برخی؛ حساسیت بیشتر این باکتری در برابر آموکسی‌سیلین، بنزیل پنی‌سیلین، ونکومایسین و داکسی‌سایکلین و در مقابل، حساسیت کمتر آن در برابر اریترومایسین و آزیترومایسین را گزارش کرده‌اند. <sup>(۵)</sup> همچنین؛ Danlen و همکاران نشان دادند انتروکوک فکالایس در برابر بنزیل پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، کلیندامایسین، مترونیدازول و تتراسایکلین مقاوم بوده ولی نسبت به اریترومایسین و ونکومایسین حساس می‌باشد. <sup>(۱۶)</sup> این تفاوت‌ها می‌تواند از گونه باکتری متفاوت، دقت تکنیک‌های مختلف بررسی حساسیت میکروبی یا تأثیر شرایط متنوع کشت باکتری بر خصوصیات آن ناشی شده باشد. <sup>(۵)</sup>

بر اساس نتایج تحقیق حاضر، خصوصیات ضد باکتری هیدروکسید کلسیم به صورت آشکاری کمتر از مواد داخل کانال دیگر بوده و در آخرین رده دارویی از نظر خصوصیات باکتری‌کشی قرار داشت.

Salem-Milani و همکاران، اثرات ضد باکتریایی دیکلوفناک سدیم بر علیه استرپتوکوک موتانس به عنوان یک باکتری مقاوم اندودنتیک را با داروهای ضد باکتری معمول داخل کانال یا داروهای سیستمیک مقایسه و مشابه تحقیق حاضر نشان دادند کلسیم هیدروکساید، کمترین اثرات ضد باکتری را داشته است. <sup>(۱۰)</sup> همین طور، Kritbikadatta و همکاران در بررسی اثرات آنتی‌باکتریال کلسیم هیدروکساید، ژل کلرگزیدین ۲ درصد، مترونیدازول

دارد، دیکلوفناک سدیم هم برعلیه گونه‌های گرم مثبت و هم بر علیه گونه‌های گرم منفی اثرات باکتری‌کشی داشته و در نتیجه؛ می‌توان از این دارو برای پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی استفاده کرد.<sup>(۲۳)</sup>

Dutta و همکاران؛ نشان دادند تزریق دیکلوفناک در دوزهای ۱/۵ میکروگرم بر گرم و ۳ میکروگرم بر گرم وزن بدن موش توانسته بود حیوانات را در برابر عفونت *salmonella* کشنده محافظت نماید.<sup>(۸)</sup> علاوه بر این؛ دیکلوفناک سدیم ممکن است در کنترل عفونت *listeria* نیز مفید باشد.<sup>(۲۴)</sup> Mazumdar و همکاران، نتایج درمان عفونت‌های مجاری ادراری ناشی از باکتری *E. coli* را با استفاده از دیکلوفناک سدیم بررسی و نشان دادند تمام نمونه‌های ایزوله شده از باکتری در برابر دیکلوفناک حساس بوده‌اند.<sup>(۷)</sup>

مکانیسم مرتبط با فعالیت ضدباکتری دیکلوفناک سدیم هنوز به صورت قطعی تعیین نشده است. البته؛ برخی تحقیقات این موضوع را با پیشگیری از سنتز DNA باکتری یا نقص در فعالیت غشاء مرتبط می‌دانند.<sup>(۸، ۲۵، ۹)</sup> مطالعات دیگری نیز گزارش کرده‌اند. داروهای ضدالتهابی مانند کورتیکواستروئیدها یا دیکلوفناک که در پوشش‌های بین کانال به کار گرفته می‌شوند؛ می‌توانند دردهای بین جلسات درمان اندو را کاهش دهند.<sup>(۲۶)</sup> با توجه به این نتایج؛ شاید بتوان از دیکلوفناک سدیم به جای کلسیم هیدروکساید که کاربردهای وسیعی در درمان‌های اندو دارد، استفاده کرد.

براساس نتایج تحقیق حاضر؛ استفاده از داروی استرپتومایسین می‌تواند میزان کلنی‌های تشکیل دهنده باکتری انتروکوک فکالیز را به صورت کامل از بین ببرد؛ همچنین، کاربرد این دارو در ترکیب با دیکلوفناک سدیم موجب تقویت خصوصیات آنتی‌باکتریال آن شده بود. Dutta و همکاران، در این زمینه نشان دادند دیکلوفناک به همراه استرپتومایسین اثرات بیشتری در مقایسه با دیکلوفناک به تنهایی در برابر عفونت *Salmonella* به تنهایی داشته است.<sup>(۸)</sup> علاوه بر این، Annadurai و

در تحقیق اخیر؛ از مدل فیلتر غشاء برعلیه بیوفیلم انتروکوک فکالیز استفاده شد، در مدل دندان‌های آلوده؛ pH کلسیم هیدروکساید به دلیل خاصیت بافری عاج ریشه اندک بوده و خاصیت ضدباکتری آن اعمال نمی‌شود.<sup>(۲۱)</sup> همانند تحقیق حاضر؛ نتایج مطالعه‌ای که با استفاده از مدل فیلتر غشاء انجام گردید؛ نشان داد بعد از یک ساعت اکسپوز دیسک‌ها در برابر کلسیم هیدروکساید؛ هنوز برخی گونه‌های باکتری انتروکوک فکالیز در کشت حضور داشته‌اند.<sup>(۲۲)</sup> حداقل زمانی که لازم است هیدروکسید کلسیم اثرات آنتی‌باکتریال خود را اعمال نماید؛ هنوز مشخص نشده است.<sup>(۳)</sup> Siqueira و همکاران نشان دادند کلسیم هیدروکساید باید حداقل هفت روز در داخل کانال باقی بماند تا به عنوان یک عامل ضد میکروبی محسوب شود.<sup>(۱۷)</sup> با توجه به اکسپوز یک ساعتی دیسک‌ها در تحقیق حاضر در برابر این دارو؛ تردیدی نیست اثرات آنتی‌باکتریال آن محدود خواهد شد؛ به طوری که Kritbikadatta و همکاران نشان دادند فعالیت ضد میکروبی کلسیم هیدروکساید در روز سوم افزایش می‌یابد.<sup>(۱۴)</sup> براین اساس؛ فعالیت ضدباکتری محدود کلسیم هیدروکساید می‌تواند با روش آزمایشگاهی به کار رفته (انتشار آگار) یا زمان اندک اکسپوز دیسک‌ها به آن مرتبط باشد، که نتایج با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

براساس نتایج تحقیق حاضر؛ خاصیت ضد میکروبی داروی ضدالتهابی دیکلوفناک سدیم به صورت آشکاری بیشتر از کلسیم هیدروکساید بوده است (حدود سه برابر). استفاده از استرپتومایسین در ترکیب با دیکلوفناک سدیم هم به صورت معنی‌داری باعث تقویت خصوصیات ضدباکتری دیکلوفناک سدیم شده بود که این موضوع می‌تواند با توانایی باکتری‌کشی استرپتومایسین مرتبط باشد؛ زیرا مواجهه دیسک‌ها با استرپتومایسین توانسته بود به صورت کامل کلنی‌های باکتری انتروکوک فکالیز را از بین ببرد.

در سال‌های اخیر مشخص گردیده داروی ضدالتهابی و غیراستروئیدی دیکلوفناک سدیم اثرات ضدباکتری وسیعی برعلیه گروه زیادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

این میکروارگانسیم به صورت زنده در داخل توبول‌های عاجی قرار گرفته و ضمن تهاجم به توبول‌ها، در حضور سرم انسانی به کلاژن متصل می‌شود.<sup>(۳۰)</sup> علاوه بر این، برداشت لایه اسمیر نیز می‌تواند منجر به نفوذ انتروکوکوس فکالیس در اعماق توبول‌های عاجی گردد.<sup>(۳۰)</sup>

### نتیجه‌گیری:

به نظر می‌رسد خصوصیات آنتی‌باکتریال داروی ضدالتهابی دیکلوفناک سدیم در مقایسه با کلسیم هیدروکساید برعلیه بیوفیلیم انتروکوک فکالیس به صورت آشکاری بیشتر است. بنابراین؛ در صورت تأیید خصوصیات و ویژگی‌های دیکلوفناک سدیم برای کاربردهای بالینی در درمان‌های کانال ریشه، شاید بتوان از آن در این درمان‌ها و به منظور از بین بردن باکتری‌های داخل کانال ریشه استفاده کرد.

همکاران، اثرات سینرژیک بین آمینوگلوکوزیدها و دیکلوفناک سدیم ضدالتهابی و ضد میکروبی را بررسی و نشان دادند ترکیب این دو دارو اثرات سینرژیک مؤثری داشته است.<sup>(۳۷)</sup> گونه‌های انتروکوکوس فکالیس، میکروارگانسیم غالب ایزوله شده از عفونت‌های اندودنتیک می‌باشد که به دلیل مقاومت بالای آن در برابر عوامل ضد میکروبی در بسیاری از تحقیقات مورد استفاده قرار گرفته است.<sup>(۲۸، ۵)</sup> احتمال حضور این میکروارگانسیم در دندان‌های دچار شکست درمان‌های اندو، ۹ برابر بیشتر از سایر گونه‌ها بوده و در مواردی که داروی داخل کانال ریشه کلسیم هیدروکساید باشد، به طور آشکاری انتروکوکوس فکالیس در برابر داروی داخل کانال مقاوم است. اثرات برخی ترکیبات حاوی آنتی بیوتیک مانند لدرمیکس بر روی انتروکوکوس فکالیس هم در مطالعات مختلف نشان داده شده است.<sup>(۲۸)</sup> از طرف دیگر، گونه‌های انتروکوکوس فکالیس، می‌توانند به مدت طولانی درون توبول‌های عاجی باقی مانده.<sup>(۲۸، ۲۹)</sup> همزمان به عنوان یک میکروارگانسیم واحد بدون اینکه تحت حمایت گونه‌های دیگر قرار بگیرد، در داخل کانال ریشه زنده بمانند.<sup>(۲۹)</sup>

### References:

- 1- Ørstavik D. Root canal disinfection: a review of concepts and recent developments. Aust Endod J 2003;29:70-74.
- 2- Gomes BP, Pinheiro ET, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC, Souza-Filho FJ. Microbial analysis of canals of root-filled teeth with periapical lesions using polymerase chain reaction. Endod. 2008;34(5):537-40
- 3- de Souza CA, Teles RP, Souto R, Chaves MA, Colombo AP. Endodontic therapy associated with calcium hydroxide as an intracanal dressing: microbiologic evaluation by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. J Endod. 2005;31(2):79-83.
- 4- Dahlen G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of Enterococci isolated from the root canal. Oral Microbiol Immunol 2000;15(5):309-312.
- 5- Pinheiro ET, Gomes BP, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ. Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. Oral Microbiol Immunol 2003;18(2):100-3.
- 6- "Diclofenac Epolamine". 2013 . Available
- 7- Mazumdar K, Dutta NK, Dastidar SG, Motohashi N, Shirataki Y. Diclofenac in the management of E. coli urinary tract infections. In Vivo 2006;20:613-620.
- 8- Dutta NK, Annadurai S, Mazumda K, Dastidar SG, Kristiansen JE, Molnar J, et al. Potential management of resistant microbial infections with a novel non-antibiotic: the anti-inflammatory drug sodium diclofenac. Int J Antimicrob Agents 2007;30(3):242-249.
- 9- Dutta NK, Mazumdar K, Dastidar SG, Park JH. Activity of diclofenac used alone and in combination with streptomycin against Mycobacterium tuberculosis in mice. Int J Antimicrob Agents 2007;30(4):336-340.
- 10- Salem-Milani A, Balaei-Gajan E, Rahimi S, Moosavi Z, Abdollahi A, Zakeri-Milani P, et al. Antibacterial Effect of Sodium diclofenac on Enterococcus faecalis. J Dent (Tehran) 2013;10(1):16-22
- 11- Chai WL, Hamimah H, Cheng SC, Sallam AA, Abdullah M. Susceptibility of Enterococcus faecalis biofilm to antibiotics and calcium hydroxide. J Oral Sci 2007;49(2):161-6.

- 12-Sato I, Ando-Kurihara N, Kota K, Iwaku M, Hoshino E. Sterilization of infected root-canal dentine by topical application of a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline in situ. *Int Endod J* 1996;29(2):118-124.
- 13-Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, et al. In-vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996;29(2):125-130.
- 14-Krithikadatta J, Indira R, Dorothykalyani AL. Disinfection of dentinal tubules with 2% chlorhexidine, 2% metronidazole, Bio-active glass when compared with calcium hydroxide as intracanal medicament. *J Endod* 2007;33(12):1473-1476.
- 15-Adl A, Shojaei NS, Motamedifar M. A comparison between the antimicrobial effects of triple antibiotic paste and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis*. *Iran Endod J* 2012;7(3):149-55
- 16-Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002;15(2):167-193.
- 17-Siqueira JF Jr, Lopes HP. Mechanisms of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *Int Endod J* 1999;32(2):361-369.
- 18-Siqueira JF Jr, de Uzeda M. Intracanal medicaments: evaluation of the antibacterial effects of chlorhexidine, metronidazole, and calcium hydroxide associated with three vehicles. *J Endod* 1997;23(3):167-169.
- 19-Gomes BP, Souza SF, Ferraz CC, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, et al. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *Enterococcus faecalis* in bovine root dentine in vitro. *Int Endod J* 2003;36(4):267-275.
- 20-Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. *J Endod* 2002;28(10):689-693.
- 21-Lin YH, Mickel AK, Chogle S. Effectiveness of selected materials against *Enterococcus faecalis*: Part 3. The antibacterial effect of calcium hydroxide and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *J Endod* 2003;29(9):565-566.
- 22-Abdullah M, Ng YL, Gulabival K, Moles DR, Spratt DA. Susceptibilities of two *Enterococcus faecalis* phenotypes to root canal medications. *J Endod* 2005;31(1):30-36.
- 23-Bourlioux P, Moreaux JM, Su WJ, Boureau H. In vitro antimicrobial activity of 18 phenothiazine derivatives: structure-activity relationships. *APMIS Suppl* 1992;30:40-43.
- 24-Dutta NK, Mazumdar K, Seok SH, Park JH. The anti-inflammatory drug diclofenac retains anti-listerial activity in vivo. *Lett Appl Microbiol* 2008;47(2):106-11
- 25-Dastidar SG, Ganguly K, Chaudhuri K, Chakrabarty AN. The anti-bacterial action of diclofenac shown by inhibition of DNA syn-thesis. *Int J Antimicrob Agents* 2000;14(3):249-251.
- 26-Ehrmann EH, Messer HH, Adams GG. The relationship of intracanal medicaments to postoperative pain in endodontics. *Int Endod J* 2003;36(12):868-875.
- 27-Annadurai S, Guha-Thakurta A, Sa B, Dastidar SG, Ray R, Chakrabarty AN. Experimental studies on synergism between aminoglycosides and the antimicrobial anti-inflammatory agent diclofenac sodium. *J Chemother* 2002;14(1):47-53.
- 28-Eftekhari B, Mafakher M, Mafakher H, KHalilinejad F, Alhaei N. Effect of Ledermix and a New Formulated Medicament on *Enterococcus Faecalis* (In Vitro). *J Res Dent Sci* 2014; 10 (4) :235-240
- 29-McHugh CP, Zhang P, Michalek S, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Endod* 2004;30(4):218-219.
- 30-Love RM, Jenkinson HF. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13:171-183.